

<p>26 調節性分泌経路における分泌顆粒開口放出機構</p>	<p>泉 哲郎</p>
---------------------------------	-------------

【目的】単量体 GTPase Rab27 とその GTP 結合型に結合するエフェクター分子は、刺激に応じて生理活性物質を放出する調節性分泌経路において、分泌小胞膜の細胞内輸送を制御している。Rab27 エフェクターの1つ Melanophilin は、アクチン線維上で働くモーター・タンパク質 Myosin-Va と結合活性を持つことから、細胞辺縁部皮質アクチン網内における分泌小胞の捕捉または輸送に関わる可能性があるが、その役割は解明されていない。本研究では、膵β細胞におけるインスリン分泌過程を対象にして、その機能と作用機構を解明する。

【方法】Melanophilin をコードする遺伝子の自然変異を有する *leaden* マウスと野生型マウスの膵島および単離β細胞を用いて、インスリン分泌能を比較解析する。通常の生理学的、形態学的、生化学的解析に加え、全反射顕微鏡を用いて、蛍光標識したインスリン顆粒の開口放出を生き細胞でリアルタイムに観測する。また、Melanophilin 分子と相互作用するタンパク質を同定し、その結合能を欠失させた変異体を *leaden* マウス膵β細胞に導入し、インスリン分泌能が回復するかどうかを調べ、Melanophilin 作用の分子機序を解明する。

【結果】*leaden* マウスでは、耐糖能が低下し、単離膵島におけるグルコース依存性インスリン分泌能が減弱していた。Melanophilin は、膵β細胞に発現し、インスリン顆粒膜に局在していた。インスリン顆粒の開口放出を全反射顕微鏡で直接観察すると、*leaden* マウス膵β細胞では、刺激前に細胞膜近傍に局在していなかった顆粒からの開口放出頻度が、野生型膵β細胞に比べて、特異的に減弱していた。膵β細胞内で、Melanophilin は、Rab27a, Myosin-Va, Syntaxin-4 に結合しており、そのいずれかの結合を失わせた Melanophilin 変異体は、野生型と異なり、*leaden* マウス膵β細胞におけるインスリン分泌能低下を回復させなかった。以上のことから、Melanophilin がこれら分子との複合体形成を介して、分泌顆粒が安定的な細胞膜ドッキングを介さずに膜融合を起こす機構を仲介している可能性が示唆された。

Rab27 エフェクター-Melanophilin による分泌顆粒開口放出機構

